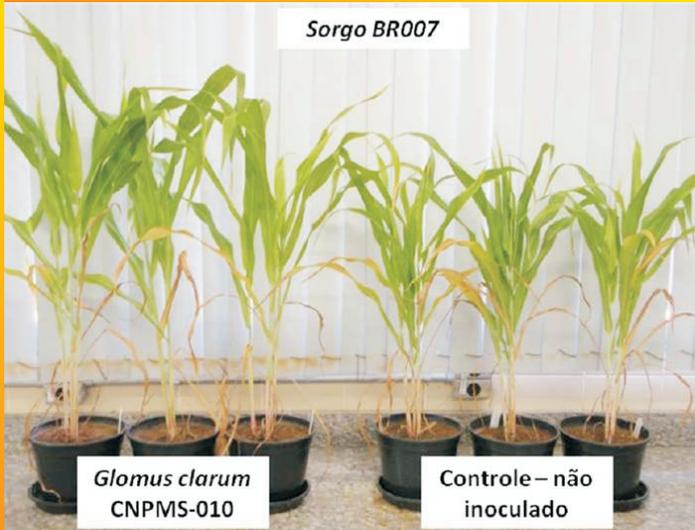


Micorrizas Arbusculares: Perspectivas para Aumento da Eficiência de Aquisição de Fósforo (P) em Poaceae - Gramíneas



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Documentos 134

Micorrizas Arbusculares: Perspectivas para Aumento da Eficiência de Aquisição de Fósforo (P) em Poaceae - Gramíneas

Francisco Adriano de Souza
Eliane Aparecida Gomes
Maria José Vilaça de Vasconcelos
Sylvia Morais de Sousa

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Milho e Sorgo

Rod. MG 424 Km 45
Caixa Postal 151
CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG
Fone: (31) 3027-1100
Fax: (31) 3027-1188
Home page: www.cnpms.embrapa.br
E-mail: sac@cnpms.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: Sidney Netto Parentoni
Secretário-Executivo: Elena Charlotte Landau
Membros: Flávia Cristina dos Santos Flávio Dessaune Tardin, Eliane Aparecida Gomes, Paulo Afonso Viana, Guilherme Ferreira Viana e Rosângela Lacerda de Castro

Revisão de texto: Antonio Claudio da Silva Barros
Normalização bibliográfica: Rosângela Lacerda de Castro
Tratamento de ilustrações: Tânia Mara Assunção Barbosa
Editoração eletrônica: Tânia Mara Assunção Barbosa
Foto(s) da capa:

1ª edição

1ª impressão (2011): on line

Todos os direitos reservados

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Milho e Sorgo**

Micorrizas arbusculares: perspectivas para aumento da eficiência de aquisição de fósforo (P) em Poaceae - gramíneas / Francisco Adriano de Souza ... [et al.]. -- Sete Lagoas : Embrapa Milho e Sorgo, 2011.

30 p. : il. -- (Documentos / Embrapa Milho e Sorgo, ISSN 1518-4277; 134).

1. Microbiologia do solo. 2. Simbiose. 3. Micorriza. 4. Gramínea.
I. Souza, Francisco Adriano de. II. Série.

CDD 631.46 (21. ed.)

© Embrapa 2011

Autores

Francisco Adriano de Souza

Eng.-Agr., Ph.D., Pesquisador em Microbiologia da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, francisco.adriano@cnpms.embrapa.br

Eliane Aparecida Gomes

Bióloga, Ph.D., Pesquisadora em Microbiologia da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, eliane@cnpms.embrapa.br

Maria José Vilaça de Vasconcelos

Farmacêutica Bioquímica, Ph.D., Pesquisadora em Biologia Molecular da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, mjose@cnpms.embrapa.br

Sylvia Morais de Sousa

Bióloga, Ph.D., Pesquisadora em Biologia Molecular da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, smsousa@cnpms.embrapa.br

Apresentação

O desenvolvimento de novas técnicas, produtos e serviços para a produção agrícola devem garantir ganhos de produtividade e redução do impacto ambiental visando assim garantir a sustentabilidade da produção agrícola aliada a conservação do meio ambiente e dos recursos naturais. Neste sentido, o desenvolvimento de plantas eficientes para a aquisição e uso de nutrientes consiste em uma das linhas de pesquisa prioritárias da Embrapa Milho & Sorgo. O trabalho intitulado **“Micorrizas Arbusculares: Perspectivas para Aumento da Eficiência de Aquisição de Fósforo (P) em Poaceae – Gramíneas”** aborda a linha de pesquisa desenvolvida neste centro que visa compreender melhor a relação simbiótica entre plantas e fungos micorrízicos arbusculares (FMA), denominada **simbiose micorrízica arbuscular**. Diversas pesquisas tem demonstrado que gramíneas inoculadas com FMA apresentam ganhos de produtividade e aumento da eficiência de aquisição de nutrientes, no entanto, as bases genéticas dessa simbiose em gramíneas ainda não estão totalmente elucidadas. Essa revisão traz o estado da arte do conhecimento sobre os genes que controlam essa simbiose em plantas. E perspectivas do uso desse conhecimento para auxiliar programas de melhoramento de gramíneas visando obter plantas mais eficientes na aquisição de nutrientes através da simbiose MA.

Antonio Alvaro Corsetti Purcino
Chefe Geral
Embrapa Milho e Sorgo

Sumário

Introdução	9
Simbiose Micorrízica Arbuscular (MA): Como Mecanismo Eficiente para Aquisição de P	11
Transportadores de Fósforo Inorgânico (Pi) em Plantas	14
Genes Envolvidos na Regulação da Simbiose Micorrízica Arbuscular em Plantas	16
Sintenia de Genomas em Gramíneas	19
Melhoramento Genético para Eficiência no Uso de Fósforo	20
Emprego das Micorrizas para Aumento na Aquisição de P	22
Considerações finais	24
Referências	24

Micorrizas Arbusculares: Perspectivas para Aumento da Eficiência de Aquisição de Fósforo (P) em Poaceae - Gramíneas

Francisco Adriano de Souza

Eliane Aparecida Gomes

Maria José Vilaça de Vasconcelos

Sylvia Moraes de Sousa

Introdução

O uso de fertilizantes fosfatados pela agricultura mundial está atingindo o patamar de 40 milhões de toneladas por ano, sendo que a maior parte destas se destina à produção de commodities agrícolas (<http://www.fao.org>). Segundo a FAO (2007), em 2002 o Brasil utilizou 441.530 toneladas de P somente para a cultura do milho, sendo este o segundo nutriente mais consumido na agricultura mundial, ficando atrás somente do nitrogênio.

O fósforo utilizado na fabricação de fertilizantes advém fundamentalmente da exploração de recursos minerais não renováveis através da mineração e do processamento de rochas fosfáticas, que, a preços atuais de exploração a 40 dólares a tonelada, estarão exauridas até a metade deste século (MURREL; FIXEN, 2006). Além dessas estimativas, os solos brasileiros apresentam alta capacidade de fixação do P aplicado como fertilizante, reduzindo drasticamente sua eficiência de utilização pelas culturas. Outro agravante é que parte do P utilizado pelas plantas é exportada indiretamente nos grãos das commodities agrícolas, necessitando reposição para não exaurir o solo e

garantir a sustentabilidade do sistema produtivo. Esse cenário indica que pesquisas voltadas para a obtenção de plantas mais eficientes na aquisição de P serão imprescindíveis para garantir a sustentabilidade e a competitividade do agronegócio brasileiro.

A eficiência na utilização de P pelas plantas é uma característica complexa e ainda pouco conhecida, sendo, portanto, pouco utilizada em programas de melhoramento. Por outro lado, as plantas diferem em sua habilidade de utilizar diferentes formas químicas de fosfato do solo sob condições de limitação desse nutriente, indicando a existência de variabilidade genética e fisiológica para aumentar a aquisição e a eficiência no uso de fósforo pelas plantas. Hoje, a disponibilidade de técnicas moleculares avançadas e a integração dessas com recursos genéticos apropriados e bem caracterizados proporcionam um novo cenário para a elucidação de mecanismos envolvidos no controle de características complexas, e para sua aplicação em programas de desenvolvimento de cultivares. Nesse sentido, pesquisas envolvendo a simbiose micorrízica arbuscular podem ser altamente relevantes para se desenvolver plantas mais eficientes na aquisição de P.

A família Poaceae reúne espécies de interesse agrícola de extrema importância para a alimentação humana, a produção animal e avícola, bem como, para a geração de bioenergia, dentre as quais temos o arroz, a cana-de-açúcar, a cevada, o centeio, o milho, o sorgo, o trigo e as forrageiras do gênero *Urochloa* (Braquiaria). Essas espécies formam naturalmente simbiose com fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Esses fungos estabelecem simbiose com raízes de plantas e seu micélio extraradicular explora o solo adquirindo água e nutrientes com grande eficiência, notadamente o fósforo (P). Os nutrientes são transferidos para as raízes micorrizadas em troca de açúcares através de transportadores de membrana específicos (JAVOT et al., 2007; SMITH; READ, 2008). As hifas dos fungos micorrízicos

são, em geral, muito mais eficientes na aquisição e no transporte de P do solo até as raízes do que o sistema radicular das plantas (SMITH; READ, 2008), principalmente, em condições de baixa disponibilidade que é o caso dos solos brasileiros (BERBARA et al., 2006; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; MIRANDA, 2008).

Os FMA são biotróficos obrigatórios, dependendo inteiramente da simbiose para completar seu ciclo de vida. Essa característica tem dificultado tanto estudos básicos sobre a biologia e a genética desses fungos como também o desenvolvimento de tecnologia para utilização de inoculante micorrízicos em larga escala. Atualmente, a disponibilização de sequências genômicas completas de algumas dessas espécies e estudos de genômica funcional têm facilitado o entendimento dessa simbiose nessa importante família de plantas. Paralelamente, o desenvolvimento de inoculante micorrízico, aliado a técnicas mais eficientes de aplicação do inoculantes, vem tornando a tecnologia de micorrizas uma realidade. Esse trabalho abordará novas perspectivas para o aumento da eficiência de aquisição de fósforo (P) em gramíneas via simbiose micorrízica.

Simbiose Micorrízica Arbuscular (MA): Como Mecanismo Eficiente para Aquisição de P

A exploração da simbiose micorrízica arbuscular pode ser uma importante estratégia para aumentar a eficiência de aquisição de fósforo em culturas de interesse agrícola. Esta simbiose é formada entre fungos do solo pertencentes ao filo Glomeromycota e raízes da maioria das espécies de plantas (SMITH; READ, 2008).

Na simbiose micorrízica arbuscular o fungo e a planta apresentam uma perfeita interação genética, morfológica e funcional em que o fungo coloniza o tecido cortical de raízes de plantas micotróficas, formando estruturas intracelulares típicas denominadas de

arbúsculos e posteriormente desenvolve o micélio extrarradicular que é capaz de adquirir nutrientes do solo com grande eficiência (SMITH; READ, 2008; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Em simbiose, a planta supre o fungo com energia para crescimento e reprodução via fotossíntese, e o fungo provê a planta e o solo com uma gama de serviços (SOUZA et al., 2008). O principal desses, ou pelo menos o mais evidente até o momento, é realizado pelo micélio extrarradicular do fungo e consiste na absorção de nutrientes obtidos de áreas localizadas além da zona de depleção da raiz, em especial o fósforo, e translocação e disponibilização desses nutrientes para células contendo arbúsculos no córtex de raízes de plantas (BOLAN, 1991; MIYASAKA; HABTE, 2001; BERBARA et al., 2006).

O micélio dos FMA absorvem P inorgânico (Pi) da solução do solo na forma de ortofosfato ($H_2PO_4^-$ e HPO_4^{2-}) como as plantas. No entanto, como o fósforo apresenta baixa taxa de difusão na solução do solo, sua absorção promove a formação de zonas de depleção, fazendo com que o fósforo tenha que ser obtido por interceptação, ou seja, o sistema radicular ou o micélio fúngico tem que crescer para além da zona de depleção para adquirir o Pi. A eficiência desse mecanismo está diretamente relacionada com a concentração de P na solução do solo, e com a taxa de crescimento e a superfície específica da raiz ou micélio (BERBARA et al., 2006; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Neste sentido, o fungo, por ter crescimento filamentosos e produzir uma malha de hifas extensa, ramificada e extremamente fina ($< 2 \mu m$ de diâmetro) é capaz de se expandir a mais de 15 cm de distância da superfície da raiz, podendo explorar volumes do solo inatingíveis por estruturas radiculares (pelos radiculares apresentam em média 1 a 2 mm de comprimento). Assim, raízes micorrizadas apresentam uma grande vantagem sobre as raízes não micorrizadas na aquisição de Pi. Essa vantagem é tão expressiva que em ambientes naturais a condição

micorrízica é a regra e a exceção são as famílias ou as espécies de plantas não micorrízicas (SMITH; READ, 2008). Por exemplo, em pastagens e pradarias localizadas em regiões de clima temperado verificou-se que o comprimento do micélio atinge 81 e 111 m.cm⁻³ de solo, respectivamente (MILLER et al., 1995) e em cambissolos e latossolos a produção média anual de hifas de FMA em áreas sob floresta tropical úmida foi estimada em 1.91 e 1.47 Mg ha⁻¹, respectivamente, variando de 0,9 a 5,7 Mg ha⁻¹.

Outros mecanismos têm sido propostos para explicar a absorção de P pelas micorrizas, tais como: (1) melhoria de parâmetros cinéticos de absorção de P pelas hifas (FAQUIN et al., 1990; SILVEIRA; CARDOSO, 2004). Esses trabalhos demonstraram que raízes micorrizadas apresentam aumentos significativos nos valores de V_{max} e diminuição nos valores de K_m e C_{mim} indicando maior afinidade pelo P (CARDOSO et al., 2010). Nesse sentido, o fungo apresenta outra vantagem, que é a capacidade de acumular e transportar fósforo no micélio na forma de cadeias de polifosfato. Essa característica possibilita aos FMA diminuir as concentrações de Pi no interior das hifas, facilitando a absorção de Pi contra um gradiente de concentração formado entre a solução do solo (menor concentração) e o citoplasma do fungo (maior concentração). Esse mecanismo permite aos fungos micorrízicos acumularem fosfato na malha de hifas evitando sua fixação na matriz do solo, e posteriormente remobilizar o P armazenado nas cadeias de polifosfato para Pi e disponibiliza-lo para as plantas.

Para exemplificar o efeito das micorrizas no crescimento de plantas em condições de baixo P (< 20µg g⁻¹ solo) e alto P (> 100µg g⁻¹ solo), apresentamos a relação da produção de matéria seca (g planta⁻¹) de plantas micorrizadas (M) e não micorrizadas (NM) para a mandioca que foi de 14,3 e 32,8. No caso do milho esta relação foi de 4 e 0,9 crescidas respectivamente em condições de baixo e alto P (SIEVERDING, 1991). Demonstrando que a

mandioca, por apresentar sistema radicular pouco ramificado responde à micorrização mesmo quando o nível de P é alto, já o milho, por possuir um sistema radicular mais eficiente, apresenta resposta somente no nível mais baixo de P. Em solos de cerrado foi verificado que o milho responde à inoculação com o FMA *Glomus etunicatum* a campo (MIRANDA, 2008). Esses resultados evidenciam o potencial da simbiose micorrízica para aumento de produtividade do milho em solos tropicais com baixa disponibilidade de Pi.

Transportadores de Fósforo Inorgânico (Pi) em Plantas

Ensaio clássico desenvolvidos nas décadas de 70 a 90 demonstraram que o conteúdo de P, interno nos tecidos das plantas, atua como regulador das taxas de colonização micorrízica, reduzindo-as em condições de alta disponibilidade (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; SMITH; READ, 2008). Com o avanço do conhecimento sobre a genética desta simbiose, tem sido possível identificar genes responsáveis por essa regulação e pela formação da simbiose micorrízica arbuscular.

Assim como outros nutrientes, o Pi é absorvido de forma seletiva contra um gradiente de potencial eletroquímico, energeticamente dependente dos transportadores de Pi (simporte) e da ação de H⁺-ATPases (BERBARA et al., 2006) nas raízes. Em plantas, são conhecidas várias classes de transportadores de Pi, inclusive uma classe de transportadores de alta afinidade (PhT1, subfamília 1) expressos somente em raízes quando em simbiose MA (KARANDASHOV; BUCHER, 2005). Javot et al. (2007) utilizaram *Medicago truncatula* para demonstrar elegantemente que a expressão do transportador PhT1, subfamília 1 denominado de MtPT4 é essencial para aquisição de Pi via simbiose micorrízica arbuscular. Além disso, esses pesquisadores demonstraram que a

funcionalidade desse transportador é crítica para manutenção desta simbiose. E também que a perda de função desse transportador leva à morte prematura de arbúsculos e com isso o fungo não é capaz de se proliferar dentro da raiz, causando o “desligamento” da simbiose. Demonstrando, portanto, que a atividade desse transportador é essencial para a manutenção da funcionalidade da simbiose micorrízica. Os pesquisadores concluíram que o transporte de Pi do fungo para a planta não é somente um benefício mas é também um requerimento para a manutenção da simbiose micorrízica arbuscular.

Em arroz, o transportador OsPT11 foi identificado como homólogo ao MtPT4 de *Medicago truncatula* (PASZKOWSKI et al., 2002). Nagy et al. (2006), em artigo que teve a participação da Dra. Maria José Vilaça Vasconcelos, pesquisadora da Embrapa Milho e Sorgo, identificaram e caracterizaram a expressão gênica do homólogo dessa proteína em milho ZEAmaPht1:6. No entanto, esse estudo avaliou somente 6 transportadores de Pi do milho. Atualmente, com a disponibilização da sequência completa do genoma do arroz, do milho e do sorgo há indicação de 13, 14 e 12 transportadores de Pi, respectivamente, para arroz, milho e sorgo (<http://www.phytozome.net/index.php>).

Recentemente, foi verificado que arroz e milho apresentam dois transportadores de Pi essenciais para o funcionamento da simbiose micorrízica arbuscular (comunicação pessoal)¹ e não um só como é reconhecido em leguminosas. Sendo um deles homólogo ao MtPT4 de *Medicago truncatula* e o outro pertencente a outra sub-classe na qual foi reconhecido o transportador OsPT13 (comunicação pessoal)². Essas descobertas indicam diferenças evolutivas no funcionamento da simbiose micorrízica MA em gramíneas em relação às leguminosas.

¹Apresentação de Paszkowski, U. durante o 52nd Annual Maize Genetic Conference, realizado de 18 a 21/03/2010, Riva del Garda, Itália.

Genes Envolvidos na Regulação da Simbiose Micorrízica Arbuscular em Plantas

O desenvolvimento das MA é um processo complexo e assíncrono, cujos mecanismos de regulação ainda são pouco conhecidos (LAMBAIS; RAMOS, 2010). Apesar disso, atualmente, diversos genes essenciais para a formação da simbiose MA já foram identificados (Tabela 1), entre esses, um grupo denominado "via simbiose comum" (VSC) do inglês "*common symbiosis pathway*". Sendo reconhecidos sete genes nesse grupo (ver Tabela 1), todos indispensáveis à formação tanto da simbiose MA como da simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio nodulíferas em leguminosas (GUIMIL et al., 2005). Para esses genes, são reconhecidos três tipos de fenótipos de micorrizas em plantas mutantes defectivas para algum deles. O Tipo I é caracterizado pelo bloqueio da colonização na fase de formação de apressório; o tipo II forma apressório, mas não apresenta crescimento inter e intracelular; e o tipo III não forma arbúsculos. Além desses, já foi identificado em arroz um grupo de 18 genes expressos exclusivamente em plantas em simbiose MA que não foram identificados em leguminosas ou outras famílias de plantas (GUTJAHR et al., 2008). Recentemente Zhang et al. (2010) demonstraram o envolvimento de dois transportadores "ATP binding cassette" (ABC) da subfamília ABC-G na formação de arbúsculos em *Medicago truncatula*.

Tabela 1. Genes reconhecidos como essenciais para o pleno desenvolvimento da simbiose micorrízica arbuscular em plantas, sua função e seus respectivos fenótipos.

Nome do gene*	Função do Gene	Fenótipo da Micorriza arbuscular
CASTOR	Canal de cálcio	Tipo II e III
POLLUX	Canal de cálcio	Tipo II
NUP85	Componente putativo do poro nuclear	Tipo II, sensível a temperatura
NUP133	Componente putativo do poro nuclear	Tipo II, sensível a temperatura
CCAMK	Quinase de proteína dependente de cálcio calmodulina	Tipo I, II e III
CYCLOPS	Proteínas desconhecidas com sequência sinalizadora nuclear e com motivo coiled-coil na região carboxi-terminal	Tipo I e II
SYMRK	Receptor quinase com repetições ricas em leucina	Tipo II
PhT1, subfamília 1 homólogo ao gene MtPT4, similar ao OsPT11	Transportadores de Pi induzidos pela formação de micorrizas em raízes de plantas	Aborto prematuro de arbúsculos***
OsPT13	Transportadores de Pi induzidos pela formação de micorrizas em raízes de plantas	não conhecido
ABC _G	ATP binding cassette	arbúsculos menores**

* Os primeiros sete genes listados são comuns às simbioses MA e BNL

**Os mutantes defectivos no desenvolvimento de micorrizas arbusculares Tipo I são caracterizados pelo bloqueio da colonização na fase de formação de apressório. Os mutantes Tipo II formam apressório, mas não apresentam crescimento inter e intracelular. Os mutantes Tipo III não formam arbúsculos.

**Fenótipo conhecido para *Medicago truncatula*

Modificado de Lambais e Ramos (2010).

Pesquisas conduzidas com plantas mutantes de milho têm ajudado a esclarecer a herança ligada a genes regulatórios da formação simbiose micorrízica. Paszkowski et al. (2006) identificaram sete mutantes de milho afetados na interação simbiótica com o fungo *Glomus mosseae*, classificando-os em três classes fenotípicas distintas: (a) NOPE (nenhuma penetração), não permite a formação de apressórios, apresenta fenótipo segregando como uma característica monogênica recessiva, indicando que uma mutação, em um único *locus*, impede o reconhecimento do fungo; (b) TAC11 (taciturno 1) forma apressórios com morfologia normal, mas em frequência reduzida. O fungo é capaz de penetrar as células da epiderme, porém, o micélio intrarradicular forma septos e não consegue proliferar. Análises de segregação indicam a ocorrência de uma mutação recessiva nesse mutante. (c) PRAM 1 (MA precoce) apresenta formação de micorrizas normal porém precoce, essa mutante segrega essa característica de forma dominante, indicando que a mutação trouxe um ganho de função que afeta o controle da restrição da planta sobre a colonização fúngica. Anteriormente, Paszkowski e Boller (2002) já haviam verificado que um mutante de milho deficiente na formação de raízes laterais apresentava uma forte redução no crescimento da parte aérea e que o crescimento era normalizado quando os mutantes eram colonizados com o FMA *Glomus mosseae*. Neste caso, o estabelecimento da simbiose foi associado à ocorrência de um novo tipo de raiz lateral, atrofiada e bastante ramificada, porém contendo arbúsculos. Para esse mutante, o fornecimento de uma dose alta de P (1 mM) melhorou o crescimento das plantas, porém de forma menos eficiente que a inoculação com o FMA com uma dosagem de P dez vezes menor (0,1 mM).

Em arroz foi verificado que o *Glomus intraradices* coloniza, preferencialmente, as raízes laterais grandes e não são capazes de colonizar raízes laterais finas, caracterizadas pela ausência de córtex. Essa preferência também ocorreu em mutantes de

arroz Tipo II (para descrição do fenótipo e genes envolvidos ver Tabela 1). Os autores verificaram também que a inoculação com *G. intraradices* promoveu significativamente a indução de raízes laterais grandes e que essa indução não requer genes da VSC, da qual alguns componentes são conhecidos como necessários para a indução de raiz lateral em *Medicago truncatula* (GUTJAHN et al., 2009). Essas descobertas indicam a ocorrência de diferenças evolutivas na simbiose MA entre gramíneas quando comparadas às leguminosas.

Sintenia de Genomas em Gramíneas

Sintenia é o termo utilizado para expressar a conservação na ordem e no conteúdo de genes, ou grupos gênicos, entre espécies relacionadas. A partir da disponibilização de sequências genômicas completas e mapeamento genético, foi verificado que organismos com divergências relativamente recentes mostram blocos idênticos de genes na mesma posição relativa no genoma, essa característica é chamada de sintenia.

Apesar dos eventos de especiação que deram origem às espécies modernas, como o milho e o sorgo, terem ocorrido por volta de 16 milhões de anos atrás (GAUT et al., 2000), o conteúdo e a ordem dos genes no cromossomo ancestral foram mantidos significativamente conservados entre as gramíneas (BONIERBALE et al., 1988; HULBERT et al., 1990). Deste modo, as espécies de gramíneas têm sido consideradas como um sistema genético único (BENNETZEN; FREELING, 1993), existindo um mapa consenso com o alinhamento dos cromossomos de arroz, milho, sorgo, milheto, trigo, aveia e centeio (GALE; DEVOS, 1988).

Com base nas relações de ancestrais comuns é possível a identificação de genes ortólogos presentes em regiões genômicas conservadas (i.e. sintênicas) em diferentes espécies. De acordo

com esta hipótese, genes com ancestrais comuns podem ser considerados como alelos interespecíficos, possibilitando a identificação de alelos superiores entre as espécies de gramíneas para serem utilizados em programas de melhoramento. Nesse sentido, Paterson et al. (1995) mostraram que genes envolvidos na domesticação estão localizados em regiões conservadas nos genomas de arroz, milho e sorgo. Essa característica tem facilitado a identificação de genes homólogos ligados à formação de micorrizas entre arroz e milho, abrindo caminho para a identificação de homólogos no genoma do sorgo. A utilização de informações do mapa genético do arroz, do milho e do sorgo, aliada à conservação dos genes relacionados à formação de micorrizas em plantas, pode vir a favorecer a identificação de genes homólogos nos genomas dessas gramíneas.

Melhoramento Genético para Eficiência no Uso de Fósforo

A variabilidade genética para a eficiência no uso de fósforo tem sido reportada em culturas como arroz (FAGERIA; BALIGAR, 1997), milho (SILVA; WARREN, 1992; BAHIA FILHO et al., 1997; PARENTONI et al., 1998; PARENTONI; SOUZA JÚNIOR, 2008) e sorgo (SCHAFFERT et al., 2001), indicando a possibilidade de melhorar geneticamente esta característica em plantas. Em trigo, a variabilidade genética para capacidade de produzir grãos em solo com baixo P foi relatada por Sousa-Rosa (1985). Resultados reportados em milho e arroz mostram que a eficiência no uso do fósforo é um caráter quantitativo (BOCHE, 1983; MAJUMDER et al., 1990) e as gramíneas têm mostrado maior tolerância a baixos níveis de fósforo do que as leguminosas (CARADUS, 1980). Barber (1980) verificou que híbridos de milho resultantes de cruzamento entre linhagens com baixa acumulação de P mostraram também baixa acumulação de P, enquanto cruzamentos entre linhagens de

alta acumulação de P produziram híbridos com alta acumulação de P, indicando que é possível obter híbridos com alta acumulação de P através da seleção de linhagens superiores.

Emprego das Micorrizas para Aumento na Aquisição de P

Além dos programas de melhoramento genético focados na obtenção de plantas mais eficientes para a aquisição de fósforo via simbiose micorrízica, para a obtenção de tecnologia de micorrizas em sua plenitude, o programa de pesquisa deve estar aliado a:

- Um programa de seleção de estirpes de FMA eficientes e adaptadas para diversas condições edafoclimáticas;
- Estudos sobre a ecologia da interação solo - planta - FMA;
- Desenvolvimento de tecnologia para produção massal de FMA;
- Desenvolvimento de formulações e técnicas de aplicação de inoculante micorrízico.

A eficiência da simbiose depende da compatibilidade genética entre o genoma do fungo e da planta hospedeira para uma dada condição edafoclimática. No Brasil, a maioria dos estudos sugere que estirpes do gênero *Glomus* apresentam-se efetivas para promoção do crescimento de gramíneas (CARDOSO et al., 2010). No entanto, dentre as espécies de *Glomus* ocorre uma ampla faixa de variação em termos de benefício para a planta simbiote. Por exemplo: Bressan et al. (2001) verificaram que a resposta de sorgo (cultivar BR304) à inoculação com *Glomus etunicatum*, *Gigaspora margarita* e *Glomus clarum* em um Latossolo Vermelho-Escuro fumigado que recebeu doses crescentes de P (0 a 200 mg/kg) foi de 55%, 33% e 6%, respectivamente, para peso da matéria seca da parte aérea. O peso dos grãos secos aumentou

em 31% e 21%, com o *Glomus etunicatum* e com a *Gigaspora margarita*, respectivamente, nas condições experimentais utilizadas, a resposta do milho à inoculação do *Glomus clarum* foi baixa. A Figura 1 mostra a resposta de sorgo BR007 inoculado com a estirpe *Glomus clarum* CNPMS_010 em relação ao controle não inoculado, em experimento conduzido em um Latossolo Vermelho-Amarelo, autoclavado e adubado com 4 g de fosfato de rocha por quilo de substrato. O desempenho do *Glomus clarum* nesses dois estudos foi contrastante e pode ser devido: (1) ao tipo e à disponibilidade de P no solo; (2) à genética do fungo, que apesar de serem da mesma espécie as duas estirpes podem ser geneticamente distintas; (3) à genética da planta; e (4) à compatibilidade genética entre planta e fungo. Esses resultados indicam a necessidade de seleção de estirpes eficientes e adaptadas para diversas condições (solos, nível de fertilidade e plantas hospedeiras).

Após a fase de avaliação de estirpes em condições controladas, o desempenho das estirpes selecionadas deve ser avaliado em campo, condição na qual pode-se avaliar desempenho do fungo inoculado frente às populações de fungos nativas. Nessa condição a resposta à inoculação dependerá da efetividade, da competitividade e do potencial de inóculo da estirpe introduzida em relação às espécies de FMA nativas.

O emprego de inoculante micorrízico de qualidade é fundamental para garantir uma colonização rápida das raízes da planta hospedeira, sendo necessário avaliar a eficácia do isolado utilizado, a dose de inóculo a ser aplicada para obter uma colonização radicular rápida e intensa, garantido assim melhor competitividade do fungo inoculado frente à comunidade de fungos indígenas. Nesse sentido, o desenvolvimento de inoculantes contendo alta densidade de propágulos de FMA é fundamental para o sucesso da inoculação em campo.

Foto: Francisco Adriano de Souza

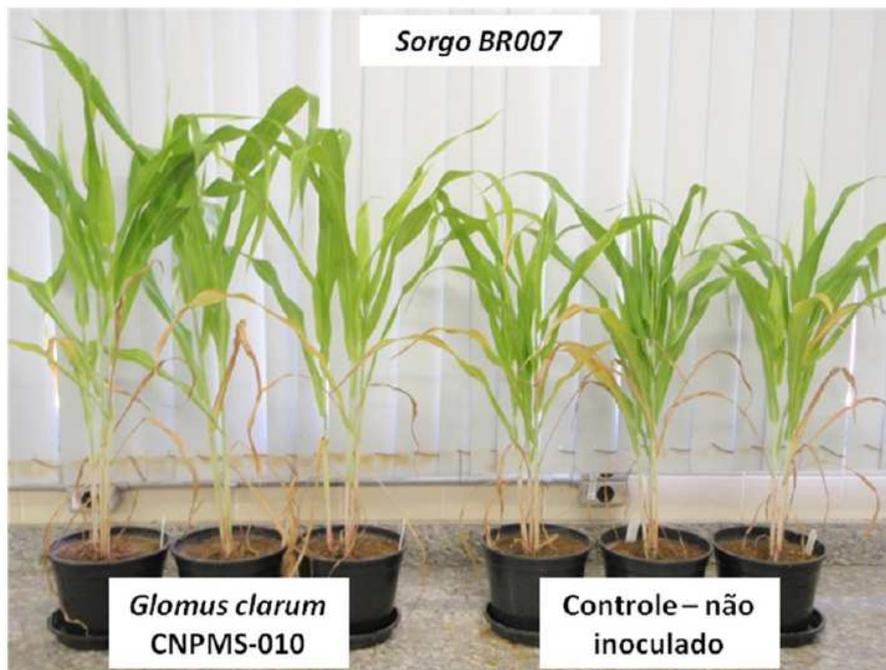


Figura 1. Plantas de sorgo inoculadas com *Glomus clarum* (CNPS010) em relação a plantas controle não inoculadas, aos 60 dias após plantio.

O inoculante pode ser colocado abaixo das sementes, que é o procedimento tradicional de aplicação do inoculante micorrízico. Porém, recentemente a peletização de sementes vem se mostrando viável e tem a vantagem de requerer quantidades menores de inoculante. Estudos realizados no México com inoculação de FMA em milho têm recomendado a peletização das sementes a partir de inoculante contendo o fungo *Glomus intraradices*, sendo reportados aumentos de produção da ordem de 4 a 19%, dependendo da localidade, da variedade e do nível de fertilização (MEDINA et al., 2010).

A produção de inoculante micorrízico com base em estirpes altamente prolíficas como *Glomus intraradices* tem se mostrado viável em diversos países, como Canadá, Índia, México e diversos países da União Europeia. No Brasil, apesar de resultados em campo obtidos por diferentes instituições de pesquisa, ainda não existem empresas comercializando inoculante micorrízico arbuscular.

Considerações finais

Com a disponibilização de sequências genômicas completas de diversas gramíneas e o aumento do conhecimento sobre a genética e a regulação da simbiose micorrízica, num futuro breve será viável o desenvolvimento de materiais genéticos que apresentem eficiência de aquisição de P superior através da simbiose micorrízica. Aliado a isso é necessário o desenvolvimento de inoculantes micorrízicos de qualidade e a continuidade do trabalho de isolamento, caracterização e seleção de estirpes.

Referências

- BAHIA FILHO, A. F. C.; MAGNAVACA, R.; SCHAFFERT, R. E.; ALVES, V. M. C. Identification, utilization and economic impact of maize germplasm tolerant to low level of phosphorium and toxic level of exchangeable aluminium in brazilian soil. In: MONIZ, A. C.; FURLANI, A. M.-C.; SCHAFFERT, R. E.; FAGERIA, N. K.; ROSOLEM, C. A.; CANTARELLA, H. (Ed.). **Plant-soil interactions at Low pH: sustainable agriculture and forestry production**. Campinas: Brazilian Soil Science Society, 1997. p. 59-70.
- BARBER, S. A. Soil-plant interactions in the phosphorus nutrition of plants. In: KHASAWNEH, F. E.; SAMPLE, E. C.; KAMPRATH, E. J. (Ed.). **Role of phosphorus in agriculture**. Madison: American Society of Agronomy, 1980. p. 591-615.

BENNETZEN, J. F.; FREELING, M. Grasses as a single genetic system: genome composition, collinearity and compatibility. **Trends in Genetics**, Amsterdam, v. 9, p. 259-261, 1993.

BERBARA, R. L. L.; SOUZA, F. A. de; FONSECA, H. M. A. C. Fungos micorrízicos arbusculares: muito além da nutrição. In: FERNANDES, M. S. (Ed.). **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p. 53-88.

BOCHEV, B. Genetic basis of mineral nutrition in triticum aestivum L. II. Effect of the cytoplasm on the absorption of nutrient elements. In: GENETICS aspects of plant mineral nutrition. Netherlands: Martinus Nijhoff, 1983. p. 429.

BOLAN, N. S. A critical-review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. **Plant and Soil**, The Hague, v. 134, p. 189-207, 1991.

BONIERBALE, M. W.; PLAISTED, R. L.; TANKSLEY, S. D. RFLP maps based on a common set of clones reveal modes of chromosomal evolution in potato and tomato. **Genetics**, Austin, v. 120, p. 1095-1103, 1988.

BRESSAN, W.; SIQUEIRA, J. O.; VASCONCELLOS, C. A.; PURCINO, A. A. C. Fungos micorrízicos e fósforo, no crescimento, nos teores de nutrientes e na produção do sorgo e soja consorciados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, p. 315-323, 2001.

CARADUS, J. R. Distinguishing between grass and legume species for efficiency of phosphorus use. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, Wllington, v. 23, p. 75-81, 1980.

CARDOSO, E. J. B. N.; CARDOSO, I. M.; NOGUEIRA, M. A.; BARETTA, C. R. D. M.; PAULA, A. M. Micorrizas arbusculares na aquisição de nutrientes pelas plantas. In: SIQUEIRA, J. O.; SOUZA, F. A. de; CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M. **Micorrizas**: 30 anos de

pesquisa no Brasil. Lavras: UFLA, 2010. p. 153-214.

FAGERIA, N. K.; BALIGAR, V. C. Phosphorus-use efficiency by corn genotypes. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 20, n. 10, p. 1267-1277, 1997.

FAO Statistical Database. Rome. Disponível em <<http://faostat.fao.org/site/408/default.aspx>> Acesso em: 23 fev. 2007.

FAQUIN, V.; MALAVOLTA, E.; MURAOKA, T. Cinética da absorção de fosfato em soja sob influência de micorriza vesículo-arbuscular. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 14, p. 41-48, 1990.

GALE, M. D.; DEVOS, K. M. Comparative genetics in the grasses. **Proceedings of the National Academy of Science of United States of America**, Washington, v. 95, p. 1971-1974, 1988.

GAUT, B. S.; D'ENNEQUIN, M.; LE, T.; PEEK, A. S.; SAWKINS, M. C. Maize as a model for the evolution of plant nuclear genomes. **Proceedings of the National Academy of Science of United States of America**, Washington, v. 97, p. 7008-7015, 2000.

GUIMIL, S.; CHANG, H. S.; ZHU, T.; SESMA, A.; OSBOURN, A.; ROUX, C.; IONNIDIS, V.; OAKELEY, E. J.; DOCQUIER, M.; DESCOMBES, P.; BRIGGS, S. P.; PASZKOWSKI, U. Comparative transcriptomics of rice reveals an ancient pattern of response to microbial colonization. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 102, p. 8066-8070, 2005.

GUTJAHR, C.; BANBA, M.; CROSET, V.; AN, K.; MIYAO, A.; AN, G.; HIROCHIKA, H.; IMAIZUMI-ANRAKU, H.; PASZKOWSKI, U. Arbuscular mycorrhiza-specific signaling in rice transcends the common symbiosis signaling pathway. **Plant Cell**, Rockville, v. 20, p. 2989-3005, 2008.

GUTJAHR, C.; CASIERI, L.; PASZKOWSKI, U. Glomus intraradices induces changes in root system architecture of rice independently of common symbiosis signaling. **New Phytologist**, Oxford, v. 182, p. 829-837, 2009.

HULBERT, S. H.; RICHTER, T. E.; AXTELL, J. D.; BENNETZEN, J. L. Genetic mapping and characterization of sorghum and related crops by means of maize DNA probes. **Proceedings of the National Academy of Science of United States of America**, Washington, v. 87, p. 4251-4255, 1990.

JAVOT, H.; PENMETS, R. V.; TERZAGHI, N.; COOK, D. R.; HARRISON, M. J. A Medicago truncatula phosphate transporter indispensable for the arbuscular mycorrhizal symbiosis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 104, p. 1720-1725, 2007.

KARANDASHOV, V.; BUCHER, M. Symbiotic phosphate transport in arbuscular mycorrhizas. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 10, p. 22-29, 2005

LAMBAIS, M. R.; RAMOS, A. C. Sinalização e transdução de sinais em micorrizas arbusculares. In: SIQUEIRA, J. O.; SOUZA, F. A. de; CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M. **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil**. Lavras: UFLA, 2010. p. 119-132.

MAJUMDER, N. D.; RAKSHIT, S. C.; BORTHAKUR, D. N. Genetic effect on uptake of selected nutrients in some rice. **Plant and Soil**, The Hague, p. 123-117, 1990

MEDINA, J. F. A.; GARZA, M. B. I.; PRADO, A. D.; CABRERA, O. G.; PENÁ DEL RIO, M. de Los A.; OSTI, C. L.; BAEZA, A. G. **Los biofertilizantes microbianos: alternativa para la agricultura em México**. Chiapas, México: Centro de Investigación Regional Pacífico Sur, 2010. (Folleto técnico, 5).

MILLER, R. M.; REINHARDT, D. R.; JASTROW, J. D. External hyphal production of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in pasture and tallgrass prairie communities. **Oecologia**, Berlin, v. 103, p. 17-23, 1995.

MIRANDA, J. C. C. **Cerrado**: micorriza arbuscular: ocorrência e manejo. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2008. 169 p.

MIYASAKA, S. C.; HABTE, M. Plant mechanisms and mycorrhizal symbioses to increase phosphorus uptake efficiency. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 32, p. 1101-1147, 2001

MOREIRA, F. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2006.

MURREL, T. S.; FIXEN, P. E. Improving fertilizer phosphorus effectiveness: challenges for the future. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON PHOSPHORUS DYNAMICS IN THE SOIL-PLANT CONTINUUM, 3., 2006, Uberlândia. **Anais**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2006. p. 150-151.

NAGY, R.; VASCONCELOS, M. J. V.; ZHAO, S.; McELVER, J.; BRUCE, W.; AMRHEIN, N.; RAGHOTHAMA, K. G.; BUCHER, M. Differential regulation of five Pht1 phosphate transporters from maize (*Zea mays* L.). **Plant Biology**, Stuttgart, v. 8, p. 186-197, 2006.

PARENTONI, S. N.; ALVES, V. M. C.; SANTOS, M. X.; GAMA, E. E. G.; LOPES, M. A.; GUIMARÃES, P. E. O.; PACHECO, C. A. P.; BAHIA FILHO, A. F. C.; MEIRELES, W. F.; SOUZA, I. R. P.; CORREA, L. A. Identificação de genótipos padrões para eficiência na utilização de P em milho. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 22., 1998, Recife, PE. **Globalização e segurança alimentar**: resumos. Recife: ABMS, 1998. p. 22.

PARENTONI, S. N.; SOUZA JÚNIOR, C. L. de. Phosphorus acquisition and internal utilization efficiency in tropical maize genotypes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 7, p. 893-901, 2008.

PASZKOWSKI, U.; BOLLER, T. The growth defect of *lrt1*, a maize mutant lacking lateral roots, can be complemented by symbiotic fungi or high phosphate nutrition. **Planta**, Berlin, v. 214, p. 584-590, 2002.

PASZKOWSKI, U.; JAKOVLEVA, L.; BOLLER, T. Maize mutants affected at distinct stages of the arbuscular mycorrhizal symbiosis. **Plant Journal**, Oxford, v. 47, p. 165-173, 2006.

PASZKOWSKI, U.; KROKEN, S.; ROUX, C.; BRIGGS, S. P. Rice phosphate transporters include an evolutionarily divergent gene specifically activated in arbuscular mycorrhizal symbiosis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 99, p. 13324-13329, 2002.

PATERSON, A. H.; LIN, Y-R.; LI, Z.; SCHERTZ, K. F.; DOEBLEY, J. F.; PINSON, S. R. M.; LIU, S-C.; STANSEL, J. W.; IRVINE, J. E. Convergent domestication of cereal crops by independent mutations at corresponding genetic loci. **Science**, Washington, v. 269, p. 1714-1718, 1995.

SCHAFFERT, R. E.; ALVES, V. M. C.; PITTA, G. V. E.; BAHIA, A. F. C.; SANTOS, F. G. Genetic variability in sorghum for P efficiency and responsiveness. In: HORST, W. J.; SCHENK, M. K.; BURKERT, A.; CLAASSEN, N.; FLESSA, H.; FROMMER, W. B.; GOLDBACH, H.; OLFS, H.-W.; ROMHELD, V.; SATTELMACHER, B.; SCHMIDHALTER, U.; SCHUBERT, S.; WIREN, N. V.; WITTENMAYER, L. (Ed.). **Plant nutrition**; food security and sustainability of agro-ecosystems through basic and applied research. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2001. p. 72-73.

SIEVERDING, E. **Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems**. Eschborn: GTZ, 1991. 371 p.

SILVA, A. E. da; WARREN, H. G. Screening maize inbred lines for tolerance to low-P stress condition. **Plant and Soil**, The Hague, p. 146-181, 1992.

SILVEIRA, A. P. D.; CARDOSO, E. J. B. N. Arbuscular mycorrhiza and kinetic parameters of phosphorus absorption by bean plants. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 61, p. 203-209, 2004.

SMITH, S. E.; READ, D. J. **Mycorrhizal symbiosis**. 3. ed. Boston: Academic Press, 2008. 787 p.

SOUSA-ROSA, O. D. E. Wheat breeding in Rio Grande do Sul, Brazil. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM WHEATS FOR MORE TROPICAL ENVIRONMENTS, 1984, México. **Wheats for more tropical environments**: proceedings. México: CIMMYT, 1985. p. 116-121.

SOUZA, F. A. de; SILVA, I. C. L. da; BERBARA, R. L. L. Fungos micorrízicos arbusculares: muito mais diversos do que se imaginava. In: MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O.; BRUSSAARD, L. (Ed.). **Biodiversidade do solo em ecossistemas brasileiros**. Lavras: UFLA, 2008. p. 482-536.

ZHANG, Q.; BLAYLOCK, L. A.; HARRISON, M. J. A partnership of two ABC transporters is essential for arbuscular mycorrhizal symbiosis. **Plant Cell**, Rockville, v. 22, p. 1483-1497, 2010.



Ministério da
**Agricultura, Pecuária
e Abastecimento**

